

Uso de reservas energéticas durante la primera madurez sexual en laboratorio de la concha nácar *Pteria sterna* con dietas enriquecidas con glúcidos y lípidos

Use of energy reserves during early sexual maturity at the hatchery of the winged pearl oyster *Pteria sterna* with diets enriched with carbohydrates and lipids

José Manuel Mazón-Suástegui ¹, Cristal Hernández López¹, Dwight Arrieche ², César Lodeiros ³, Luis Freites ², Pedro E. Saucedo ¹

¹Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR). Av. Instituto Politécnico Nacional 195, Col. Playa de Palo de Santa Rita Sur, La Paz, B.C.S. 23096, México

²Instituto de Investigaciones en Biomedicina y Ciencias Aplicadas de la Universidad de Oriente Dra. Susan Tai. Cerro El Medio, Av. Universidad, Cumaná, Sucre, Venezuela

³Grupo de Investigación en Biología y Cultivo de Moluscos, Dpto. Acuicultura, Pesca y Recursos Naturales Renovables, Facultad de Acuicultura y Ciencias del Mar, Universidad Técnica de Manabí, Ecuador

Correspondencia: Pedro E. Saucedo **E-mail:** psaucedo04@cibnor.mx

Original article | Artículo original

Palabras clave

Acuicultura,
composición
bioquímica,
dieta microalgal,
fécula de maíz,
primera madurez
sexual,
microcápsulas lipídicas

RESUMEN | Se evaluó el uso de las reservas energéticas de reproductores juveniles de *Pteria sterna* (50 mm de altura; 9 meses de edad) durante su primera madurez sexual en condiciones de laboratorio. Se empleó una dieta microalgal base (Dieta M) complementada con fécula de maíz rica en carbohidratos (dietas F1 y F2) y con microcápsulas ricas en lípidos (dietas L1 y L2), equivalente a una ración diaria del 1 y 2 % de la biomasa seca de tejidos blandos. Se hicieron muestreos a los días 0 (d₀), 15 (d₁₅) y 30 (d₃₀) para recolectar tejidos y determinar las variaciones temporales en el índice de tejido gonadal (ITG, %), diámetro teórico de ovocitos (DT, µm) y composición bioquímica de carbohidratos, proteínas y lípidos en la gónada, glándula digestiva, músculo y manto (mg/g). Debido a la talla de los organismos y carácter protándrico de la especie, los machos dominaron sobre las hembras en todos muestreos. Al d₃₀, los organismos maduraron en diferente proporción dependiendo del sexo y dieta, siendo el ITG significativamente mayor en machos y hembras que se alimentaron con la dieta L1, y el DT de ovocitos significativamente mayor en las hembras de la dieta L2. La concentración de carbohidratos del músculo aductor y gónada disminuyó significativamente en ambos muestreos (d₁₅ y d₃₀) y en casi todas las dietas (excepto F2); esto sugiere un proceso de lipogénesis a partir de este combustible en ambos tejidos, particularmente en el músculo, lo que a su vez explica el incremento en los niveles de lípidos en la gónada al d₃₀ en las ostras de las dietas L1 y L2. El contenido de lípidos de la glándula digestiva disminuyó significativamente al d₃₀ con casi todas las dietas (a excepción de L2), indicando que este tejido moviliza a la gónada lípidos previamente almacenados para asegurar la maduración de gametos. La dieta L2 parece la mejor alternativa, incluso combinada con la dieta F2, para la maduración sexual de *P. sterna*, con resultados que podrían estar asociados a su actividad gametogénica inicial protándrica.

Keywords

Aquaculture,
biochemical
composition,
microalgal diet,
cornstarch diet,
first sexual maturity,
lipid microcapsules

ABSTRACT | The use of energy reserves of juvenile *Pteria sterna* broodstock (50 mm shell height; 9 months old) was evaluated during their first sexual maturity under laboratory conditions. A base microalgal diet (diet M) was supplemented with carbohydrate-rich corn starch (diets F1 and F2) and lipid-rich microcapsules (diets L1 and L2), given at a daily ration of 1 and 2% of dry weight of soft tissues. Samplings were conducted at days 0 (d₀), 15 (d₁₅) and 30 (d₃₀) to collect tissues and determine temporal variations in the gonad tissue index (ITG, %), theoretical diameter of oocytes (DT, µm), and biochemical content of carbohydrates, proteins, and lipids in the gonad, digestive gland, adductor muscle, and mantle tissue (mg/g). Given the size of oysters and protandrous nature of the species, males outnumbered females in all samplings. At d₃₀, all oysters matured in different proportions depending on sex and diet, being the ITG significantly higher in males and females given the L1 diet, and the DT of oocytes significantly higher in females fed the L2 diet. The carbohydrate concentration in adductor muscle and gonad significantly decreased in both samplings (d₁₅ y d₃₀) and in almost all diets (except F2); this suggests a process of lipogenesis from this fuel in both tissues, particularly in muscle, which explains in turn the increase in total lipids in the gonad at d₃₀ in oysters from the L1 and L2 diets. The lipid content of the digestive gland significantly decreased at d₃₀ with almost all diets (except L2), indicating that this tissue mobilizes previously stored lipids to the gonad to ensure gamete maturation. The L2 diet appears the best alternative, even combined with the F2 diet, to promote sexual maturation of *P. sterna*, with results that could be associated with its initial protandrous-type gametogenic activity.

INTRODUCCIÓN

La reproducción de moluscos bivalvos en laboratorio para la producción de semilla es un proceso complejo que depende de muchos factores difíciles de controlar, en particular el cultivo de microalgas como principal fuente de alimento (Navarro *et al.* 2000; Helm *et al.* 2006). Dado que la producción de microalgas puede representar entre un 30-40% del costo operativo de un criadero comercial (hatchery en inglés) (Le Moullac *et al.* 2013; Matias *et al.* 2016), desde décadas atrás se han evaluado diversos complementos alimenticios de bajo costo que permitan sustituir parcial o totalmente la biomasa microalgal sin sacrificar el desempeño y condición fisiológica de los organismos (Ehteshami *et al.* 2011; González-Araya *et al.* 2012). Por ejemplo, cereales como el almidón de maíz y germen de trigo son económicos, fáciles de preparar y aportan gran parte de la demanda energética de adultos, larvas y semillas de diferentes especies de moluscos bivalvos (Fernández-Reiriz *et al.* 1998, 1999; Pérez-Camacho *et al.* 1998; Albentosa *et al.* 2002; Pirini *et al.* 2007; Mazón-Suástegui *et al.* 2008, 2009, 2017, 2019; Maeda-Martínez *et al.* 2016; López-Carvallo *et al.* 2017). Otro tipo de suplementos alimenticios de bajo costo, rápida preparación y fácil ingestión y digestión por su pequeño tamaño (2-6 μm) que se han evaluado para mejorar la condición de juveniles y la maduración de reproductores en algunas especies de moluscos bivalvos son las emulsiones lipídicas, microesferas y microcápsulas de gelatina-acacia (Knauer y Southgate 1999; Caers *et al.* 2000, 2003; Soudant *et al.* 2000; Nevejan *et al.* 2003; Ehteshami *et al.* 2011).

De muchas especies de moluscos bivalvos de interés comercial para la acuicultura, la concha nácar alada *Pteria sterna* (Gould, 1851) reviste particular importancia debido a su potencial para producir medias perlas (mabés) y perlas esféricas de gran atractivo y calidad por sus tonos multicolores que tienen una creciente demanda en los mercados nacionales e internacionales (Kiefert *et al.* 2004; Ruíz-Rubio *et al.* 2006; Freitas *et al.* 2020; Jara *et al.* 2021). *P. sterna* se distribuye desde las costas de Baja California Sur, México, hasta el norte de Perú (Coan y Valentich-Scott, 2012), aunque la mayor cantidad de estudios sobre la biología y cultivo de la especie para fines de producción de perlas se han realizado en el Golfo de California (Saucedo *et al.* 2022). En esta zona, *P. sterna* se reproduce durante el invierno-primavera, cuando la temperatura del agua disminuye y la productividad primaria aumenta (Saucedo y Monteforte 1997). Para sustentar la gametogénesis, esta especie utiliza una combinación de estrategias oportunistas y conservadoras a partir de la energía del alimento en invierno y de las reservas de los tejidos somáticos en primavera (Vite-García y Saucedo 2008; Cáceres-Puig *et al.* 2009). Por el contrario, la reproducción de la especie en condiciones de laboratorio ha sido difícil de controlar (Saucedo 2017; Hoyos-Chairez *et al.* 2020), debido básicamente al desconocimiento que prevalece sobre gran parte de sus requerimientos fisiológicos y nutricionales, los cuales son necesarios para asegurar el óptimo desarrollo de los gametos y más adelante de las larvas cultivadas (Gómez-Robles *et al.* 2013, 2023; Hawkyns *et al.* 2014). Estos requerimientos no solo están influenciados por los factores ambientales, sino por la condición de los reproductores (madurez de los gametos), por lo que pueden variar al momento de la primera madurez como macho (protandria) o en los sucesivos cambios macho-hembra-macho que ocurren como parte del hermafroditismo secuencial (Saucedo y Southgate 2008; Gómez-Robles *et al.* 2013).

Para comprobar esta posibilidad, se analizó el efecto de una dieta microalgal base complementada con fécula de maíz rica en carbohidratos y microcápsulas ricas en lípidos, en la utilización de reservas energéticas durante la primera madurez sexual de *P. sterna* en el laboratorio. Ello con la finalidad de avanzar en el conocimiento de la reproducción controlada de la especie en laboratorio, particularmente fuera de su temporada natural de maduración, lo cual podría ayudar a complementar la errática recolecta de semilla del campo y apoyar las operaciones de cultivo y producción de perlas que se desarrollan hoy en día en algunos países de Latinoamérica como México, Ecuador y Perú (Saucedo *et al.* 2022).

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección y aclimatación de organismos

Se recolectaron 140 juveniles de *P. sterna* (50 ± 3.2 mm de altura de la concha) de una estación de cultivo submarina en la Bahía de La Paz, B.C.S., México ($24^{\circ}16' \text{ N}$; $110^{\circ}19' \text{ W}$). La recolecta se hizo cuando los organismos tenían 9 meses de edad y la mayor parte de la población cultivada se encontraba en desarrollo incipiente durante su primer ciclo gametogénico como machos; sin embargo, la recolecta también se hizo a una talla donde

ocurre el primer cambio de sexo a hembra como parte de la protandria (Saucedo y Monteforte 1997; Gómez-Robles *et al.* 2013; Serna-Gallo *et al.* 2014). En el laboratorio, una muestra representativa de 15 organismos se midió (0.1 mm de precisión), se pesó en húmedo (0.1 g de precisión) y en seco sin concha (0.01 g de precisión) para determinar el peso promedio individual de la biomasa seca de sus tejidos blandos (BST). Enseguida, las ostras se distribuyeron equitativamente en diez contenedores de plástico de 80 L (llenos a 60 L) y se aclimataron por dos semanas a 23 ± 1 °C, 36 ± 1 UPS y fotoperiodo de 12 h de luz/oscuridad. Durante este periodo, se alimentaron *ad libitum* con un sistema de flujo cerrado utilizando una mezcla 1:1:1 de las microalgas *Isochrysis galbana* (= *Tisochrysis lutea*), *Pavlova salina* y *Chaetoceros calcitrans* a una concentración de 240×10^3 células mL⁻¹ y un equivalente diario del 2% de la BST (Mazón-Suástegui 1988; Gómez-Robles *et al.* 2013, 2023). Diariamente, se hizo un recambio del 60% de agua en los contenedores para sustituirla con agua de mar limpia.

Cultivo de microalgas

Las microalgas se cultivaron a 23 ± 1 °C en un sistema estático de bolsas de 40 L, suministrando el medio de cultivo F2 para los flagelados (*I. galbana* y *P. salina*) y un complemento de metasilicatos para la diatomea (*C. calcitrans*) (Helm *et al.* 2006; Marshall *et al.* 2010; González-Araya *et al.* 2012). La cosecha se realizó siempre en la fase exponencial de crecimiento para asegurar que se proporcionara a los organismos una concentración diaria de células microalgales de unas 240×10^3 cél/mL, según Gómez-Robles *et al.* (2013, 2023).

Preparación del complemento de glúcidos: Esta dieta se elaboró con fécula de maíz comercial (Maizena[®], Unilever de México, CDMX, MX), la cual se pesó para preparar diariamente la ración para cada dieta experimental, referida en términos porcentuales (1, o 2%) al peso seco promedio individual de tejidos blandos de los organismos de la población inicial (BST). La cantidad de fécula necesaria se suspendió en 100 mL de agua dulce fría bajo agitación, se vertió en 2 L de agua dulce en ebullición bajo agitación también y se aforó a 6 L con agua de mar fría, previamente filtrada a 1 µm y esterilizada con luz UV. Esta suspensión de glúcidos fue suministrada a los organismos de manera continua, según Fernández-Reiriz *et al.* (1998, 1999), Pérez-Camacho *et al.* (1998) y Mazón-Suástegui *et al.* (2008, 2009, 2017).

Preparación del complemento de lípidos: Estos se prepararon utilizando un extracto de orbital de atún rico en ácidos grasos altamente insaturados (HUFA por sus siglas en inglés), con un 30% de ácido docosahexanoico (DHA; 22:6 n-3) (Omega-Mex[®], La Paz, B.C.S., México). El extracto lipídico se microencapsuló a 40 °C en una mezcla acuosa de Microcápsulas de Gelatina-Acacia (GAM por sus siglas en inglés). La mezcla se hizo por goteo agregando HCl (10%) para reducir el pH a 3,7 e inmediatamente agregar NaOH (0.5 M) para incrementarlo a 9,3. La mezcla resultante se aforó con agua destilada (1,2 L), se enfrió (5 °C; 24 h), y se obtuvo una capa de microcápsulas en la superficie (Knauer y Southgate 1999). Las microcápsulas, de un diámetro promedio de 2-3 µm, se suspendieron en agua destilada (10 mL) y se separaron las raciones diarias porcentualmente referidas a la BST, para suministrar a los organismos experimentales una ración diaria equivalente al 1 o 2% de la BST.

Bioensayo

Posterior a la aclimatación, se realizó un segundo muestreo de 15 individuos para determinar su condición gonadal. Muestras de la masa visceral se fijaron en solución Davidson, se deshidrataron, incluyeron en Paraplast-TX, cortaron a 4 µm y se tiñeron con hematoxilina-eosina (Kim *et al.* 2006). Para determinar la proporción sexual y estadio de desarrollo gonadal, se utilizó el esquema de clasificación de Saucedo y Monteforte (1997) de cinco estadios: indiferenciado, desarrollo, madurez, desove parcial y post-desove. Posteriormente, se formaron al azar 10 grupos de 12 individuos cada uno, manejados por duplicado ($n=12$ por réplica), y se acondicionaron con una de cinco dietas experimentales: (1) 100% de la dieta microalgal de la aclimatación (dieta M) ofrecida a una ración diaria equivalente al 2% de la BST de la población inicialmente muestreada (Mazón-Suástegui 1988); (2 y 3) Dietas F, formuladas con 50% de M y una ración diaria de fécula de maíz rica en glúcidos, equivalentes al 1% (F1) y 2% (F2) de la BST; y (4 y 5) Dietas L, formuladas con 50% de M y una ración diaria de GAM ricas en lípidos, equivalentes al 1% (L1) y 2% (L2) de la BST. Las dietas se suministraron durante 30 días mediante flujo continuo similar al utilizado durante el periodo de aclimatación.

Evaluación

Análisis histológico: De cada tratamiento se recolectaron muestras de gónada al inicio (d_0), día 15 (d_{15}) y día 30 (d_{30}) del bioensayo y se procesaron siguiendo el mismo esquema de clasificación propuesto para la especie (Saucedo y Monteforte 1997; Vite-García y Saucedo 2008). A su vez, de cada tratamiento y muestreo se tomaron imágenes de tres campos de la gónada ($10\times$ y $20\times$) y se procesaron con el programa Image Pro Plus® (vers. 9.0 Media Cybernetics, Bethesda, E.U.A.). Con estos datos se estimó el índice de tejido gonadal (ITG) de machos y hembras, mediante el cociente entre el área de cobertura del tejido gonadal (ACTG) y el área total de la imagen (ATI) ($ITG = 100 \times ACTG/ATI$) (Rodríguez-Jaramillo *et al.* 2008). Con las hembras en particular, se estimó el diámetro teórico (DT) de 50 ovocitos completos, bien desarrollados y con núcleo presente, utilizando la fórmula $DT = (4A / \pi)^{1/2}$, donde A es el área del ovocito (μm^2) y π es una constante (Saucedo y Southgate 2008; Gómez-Robles *et al.* 2013).

Análisis bioquímico: Debido a la poca presencia de hembras en las muestras, los análisis bioquímicos se hicieron únicamente en machos. Porciones de la gónada, glándula digestiva, músculo aductor y manto de cada tratamiento y muestreo previamente preservados a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ se liofilizaron para determinar su peso seco promedio (0.01 g de precisión). Posteriormente, las muestras se rehidrataron en solución salina ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$; 35%) y se homogenizaron para la preparación de los extractos crudos. Estos se utilizaron para determinar la concentración de: (1) carbohidratos totales (mg/g), según Van Handel (1965), empleando un reactivo blanco y solución de dextrosa como estándar (Cat. #G8270, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, E.U.A.); la lectura de la absorbancia se realizó a 620 nm; (2) proteínas totales (mg/g) por el método del ácido bicinonínico (Smith *et al.* 1985), utilizando un reactivo comercial (Cat. #B6916, Sigma-Aldrich) y albúmina de bovino como estándar; la absorbancia se registró a 595 nm; y (3) lípidos totales (mg/g) siguiendo la versión modificada del método de Bligh y Dyer (1959), usando 20 μl del sobrenadante del extracto crudo y 200 μl del reactivo comercial (Randox Laboratories, Antrim, UK); se registró la absorbancia a 560 nm.

Análisis estadístico: Los datos fueron corroborados para normalidad y homogeneidad de varianzas mediante las pruebas de Kolmogorov-Smirnoff y Levene, respectivamente (Sokal y Rohlf 1981). Dado que el tamaño de muestra por tratamiento era pequeño ($n=12$) y los datos mostraron una distribución no normal, la existencia de diferencias significativas en el índice de tejido gonadal, diámetro teórico de ovocitos y concentración bioquímica de tejidos entre tratamientos se evaluó mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis (K-W). Cuando fue necesario, se utilizó también una prueba *a posteriori* de comparación múltiple de medias de Tukey. Las pruebas se realizaron de forma independiente para cada tiempo (d_{15} y d_{30}), utilizando el programa STATISTICA (vers. 10.0, StatSoft, Tulsa, OK, E.U.A.) a un nivel de significancia de $P<0,05$.

RESULTADOS

Proporción sexual

Los análisis histológicos revelaron un predominio marcado de gónadas indiferenciadas ($\sim 45\%$) y de machos ($\sim 40\%$) en todos los tratamientos y muestreos. Aunque las hembras se detectaron en menor proporción al d_{15} y d_{30} (10 a 15%), su frecuencia fue mayor en los organismos alimentados al d_{15} con las dietas F2 ($\sim 20\%$) y L1 ($\sim 16\%$), y particularmente, al d_{30} con la dieta L2 (40%) (Fig. 1A).

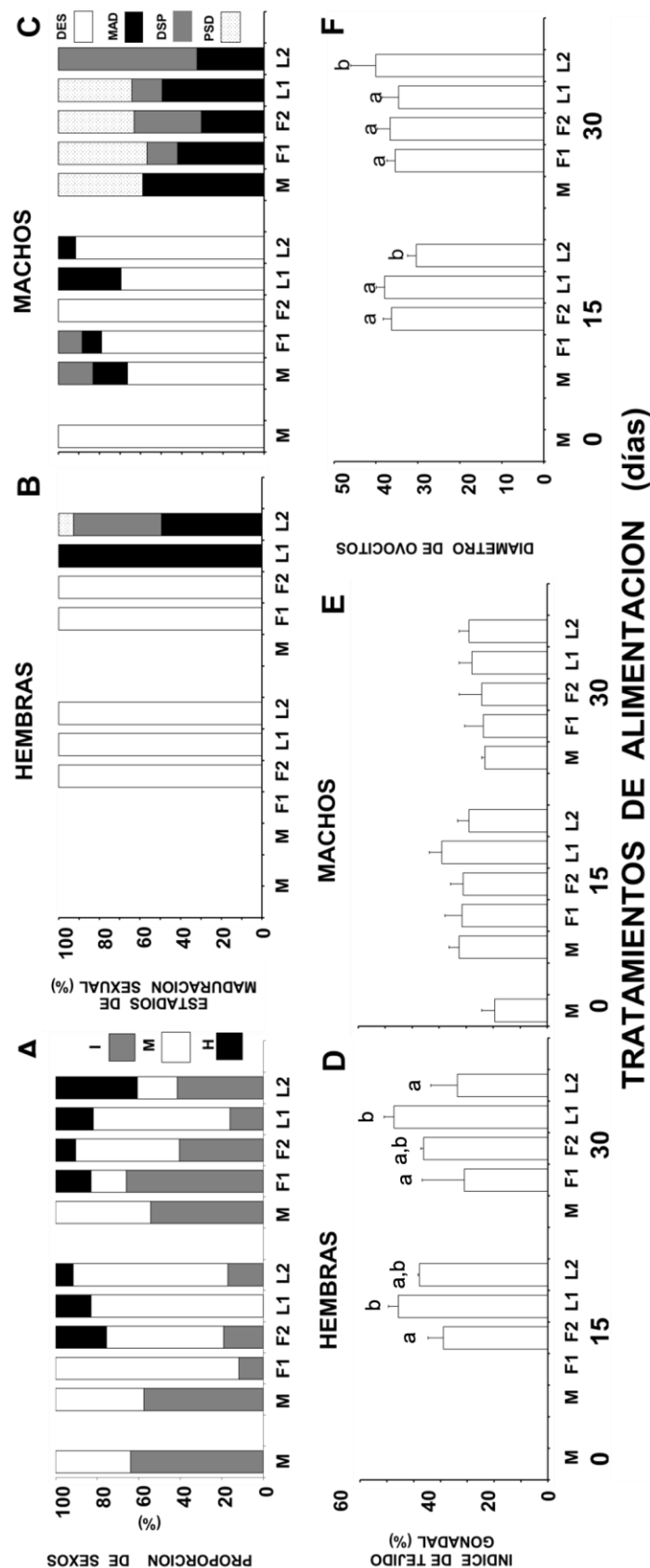


Figura 1. Variaciones temporales en la proporción sexual, estadios de desarrollo gonadal, índice de tejido gonadal y diámetro teórico de ovocitos de la concha nácar *Pteria sterna* acondicionada en laboratorio durante su primer ciclo gametogénico con diferentes dietas experimentales. Se presenta la media $\pm$ D.E. Superíndices diferentes entre columnas indican la existencia de diferencias significativas entre tratamientos a una $P < 0,05$, de forma independiente al d_{15} y d_{30} . M = Dieta microalgal control; F1 y F2 = Microalgas complementadas al 50% con fécula de maíz al 1% y 2% del peso seco de tejidos; L1 y L2 = Microalgas complementadas añ 5% con microcápsulas de lípidos al 1% y 2% del peso seco de tejidos; I = Inmaduro; H = Hembra; M = Macho; DES = Desarrollo; MAD = Maduro; DSP = Desove parcial; PSD = Posdesove.

Maduración sexual

No se observaron gónadas femeninas en estado de madurez al d₁₅, solo en estado de desarrollo (100%). Al d₃₀, solo se presentaron hembras maduras con las dietas L1 (100%) y L2 (52%) y en desove (43%) con la dieta L2 (Fig. 1B). En los machos, se detectaron pocas gónadas maduras al d₁₅ (19% con la dieta M y 31% con la dieta L1), así como en etapa de desove con las dietas M (11%) y F1 (7%). Al d₃₀, todos los machos alcanzaron la madurez sexual en diferente proporción, mayormente los acondicionados con las dietas M (62%) y L1 (50%). A su vez, el mayor porcentaje de machos que logró desovar (68%) ocurrió en aquellos que recibieron la dieta L2 exclusivamente; en los restantes tratamientos la respuesta al desove varió entre 0% y 20% (Fig. 1C).

Índice de tejido gonadal (ITG)

En las hembras, el ITG fue significativamente mayor ($P < 0,05$) al d₁₅ en aquellas acondicionadas con la dieta L1 (51%), en comparación con la dieta F2 (38%). Al d₃₀, las hembras maduras con la dieta L1 presentaron un valor de ITG significativamente mayor ($P < 0,05$) (55%) que las que recibieron las dietas F1 y L2 (~32%) (Fig. 1D). En los machos, aunque los valores del ITG fueron ligeramente más bajos que en las hembras, no presentaron diferencias significativas ($P > 0,05$) entre tratamientos y muestreos. A pesar de ello, el ITG fue un poco más alto en las ostras alimentadas con la dieta L1 al d₁₅ (38%) y con las dietas L1 y L2 al d₃₀ (~24%) (Fig. 1E).

Diámetro teórico de ovocitos (DT)

Al d₁₅, el DT de los ovocitos fue significativamente mayor ($P < 0,05$) en las hembras acondicionadas con las dietas F2 ($39,3 \pm 3,1 \mu\text{m}$) y L1 ($40,5 \pm 3,8 \mu\text{m}$), en comparación con las que recibieron la dieta L2 ($34,6 \pm 3,0 \mu\text{m}$). Aunque la talla de los ovocitos no se incrementó al d₃₀ con respecto al d₁₅, mostró un pico significativo ($P < 0,05$) en las hembras maduras con la dieta L2 ($43,2 \pm 3,9 \mu\text{m}$) (Fig. 1F).

Análisis bioquímico

Concentración de carbohidratos totales: En la gónada, la concentración de carbohidratos fue significativamente mayor ($P < 0,05$) al d₁₅ en las ostras alimentadas con la dieta F2 ($36 \pm 5,9 \text{ mg/g}$), en comparación con aquellas de las dietas M, L1 y L2 ($\sim 23,2 \pm 1,9 \text{ mg/g}$). Al d₃₀, la concentración de carbohidratos se incrementó significativamente ($P < 0,05$) en las ostras que recibieron la dieta F1 ($37 \pm 3,2 \text{ mg/g}$), comparado con los restantes tratamientos ($\sim 18,5 \pm 1,6 \text{ mg/g}$) (Fig. 2A). No se detectaron diferencias significativas ($P > 0,05$) en el contenido de carbohidratos de la glándula digestiva al d₁₅, pero sí al d₃₀ en las ostras que recibieron la dieta M ($73,8 \pm 6,9 \text{ mg/g}$) (Fig. 2B). En el músculo aductor, la concentración de carbohidratos fue significativamente mayor ($P < 0,05$) en las ostras maduras con la dieta F2, tanto al d₁₅ ($84,5 \pm 10,0 \text{ mg/g}$), como al d₃₀ ($41,8 \pm 5,8 \text{ mg/g}$), con respecto a los restantes tratamientos (Fig. 2C). En el manto, la concentración de carbohidratos también fue significativamente mayor ($P < 0,05$) en las ostras acondicionadas con la dieta F2 al d₁₅ ($38,2 \pm 3,6 \text{ mg/g}$) y d₃₀ ($23,5 \pm 2,8 \text{ mg/g}$) (Fig. 2D).

Concentración de lípidos totales: En la gónada, no se detectaron diferencias significativas ($P > 0,05$) en la concentración de lípidos entre tratamientos y muestreos (Fig. 2E). En la glándula digestiva, la concentración de lípidos disminuyó en todos los tratamientos con respecto al t₀, mostrando un aumento significativo ($P < 0,05$) al d₁₅ en las ostras alimentadas con las dietas L1 y L2 ($63,1 \pm 6,6 \text{ mg/g}$) y un pico significativo al d₃₀ con la dieta L2 ($135,2 \pm 14,8 \text{ mg/g}$) (Fig. 2F). En el músculo, la concentración de lípidos se mantuvo constante en casi todos los tratamientos y muestreos, con un máximo significativo ($P < 0,05$) en las ostras que recibieron la dieta F2 al d₁₅ ($27,4 \pm 3,0 \text{ mg/g}$) y las dietas L1 y L2 al d₃₀ ($23,5 \pm 2,6 \text{ mg/g}$) (Fig. 2G). En el manto, los niveles de lípidos también fueron relativamente constantes al d₁₅ y solo fueron significativamente mayores ($P < 0,05$) al d₃₀ en las ostras acondicionadas con la dieta F1 ($54,0 \pm 7,2 \text{ mg/g}$) (Fig. 2H).

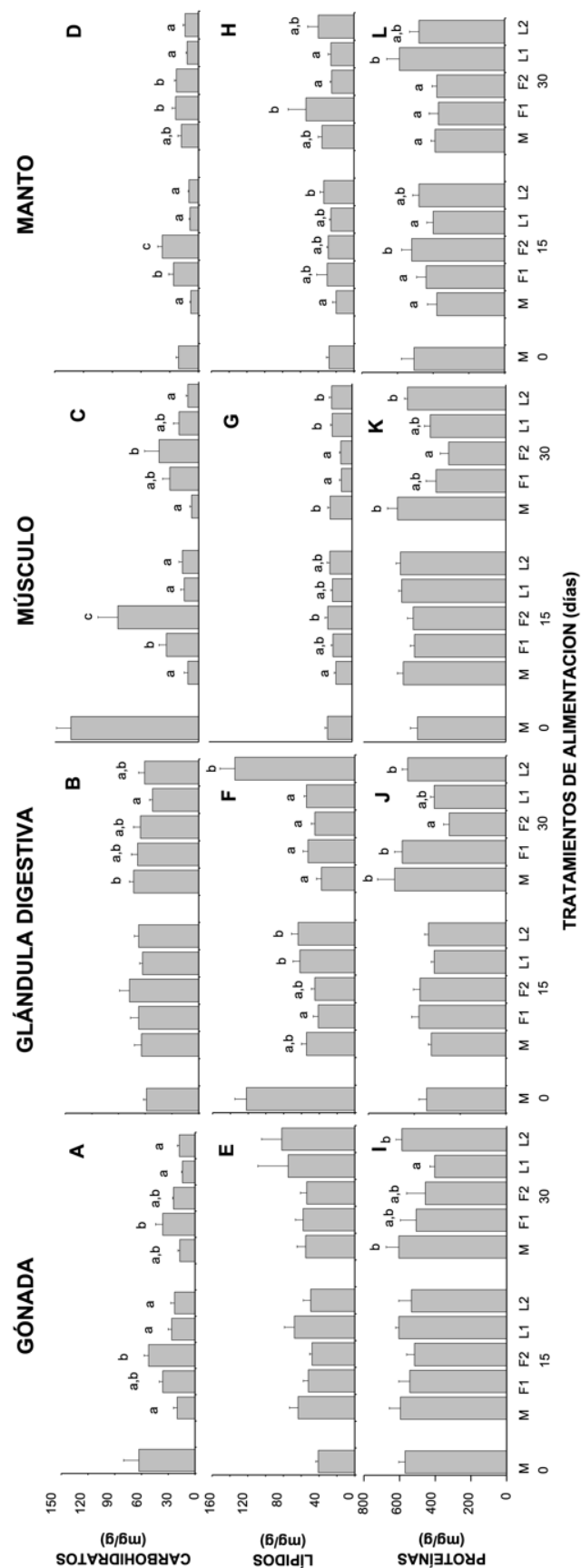


Figura 2. Variaciones temporales en la composición bioquímica de la gónada, glándula digestiva, músculo y manto de la concha nácar *Pteria sterna* acondicionada en laboratorio durante su primer ciclo gametogénico con diferentes dietas experimentales. Se presenta la media $\pm$ D.E. Superíndices diferentes entre columnas indican la existencia de diferencias significativas entre tratamientos a una $P < 0,05$, de forma independiente al d_{15} y d_{30} . M = Microalgas; F1 = Microalgas complementadas con fécula de maíz al 1%; F2 = Microalgas complementadas con fécula de maíz al 2%; L1 = Microalgas complementadas con lípidos al 1%; L2 = Microalgas complementadas con lípidos al 2%.

Concentración de proteínas totales: No se observaron variaciones significativas ($P > 0,05$) en la concentración de proteínas de la gónada al d_{15} , pero al d_{30} el incremento si fue significativo en las ostras alimentadas con las dietas M ($604 \pm 69,5$ mg/g) y L2 ($586,3 \pm 57,1$ mg/g) (Fig. 2I). El patrón fue muy similar en la glándula digestiva (Fig. 2J) y el músculo aductor (Fig. 2K). En el manto, el contenido de proteínas solo fue significativamente mayor ($P > 0,05$) al concluir el bioensayo (d_{30}) en las ostras acondicionadas con la dieta L1 ($590,8 \pm 58,4$ mg/g) (Fig. 2L).

DISCUSIÓN

Este estudio se llevó a cabo con juveniles de *P. sterna* de tallas competentes para la reproducción (~50 mm de altura) y en su primer ciclo gametogénico. Esto es importante si se considera que esta especie protándrica, como otros moluscos bivalvos, madura inicialmente como macho y posteriormente cambia a hembra a una talla variable que depende de su condición fisiológica y factores ambientales (Saucedo y Southgate 2008; Vite-García y Saucedo 2008; Gómez-Robles et al. 2013, 2023). En México, el inicio de la primera madurez sexual en esta especie se reporta desde los 39 mm de altura de la concha (machos) y 50 mm (hembras) en ambientes subtropicales de la Bahía de La Paz (Saucedo y Monteforte 1997); a los 51 mm (machos) y 59 mm (hembras) en condiciones tropicales de la Bahía de Acapulco (Serna-Gallo et al. 2014); y hasta los 75 mm en una región templada como la Bahía de Los Ángeles (Meza-Buendía 2016).

La evidencia histológica de este estudio sugiere que complementar al 50% la biomasa microalgal (dieta M) con suplementos alimenticios ricos en lípidos (dietas L), favoreció un mayor desarrollo y maduración de los gametos al d_{30} , en comparación con los compuestos ricos en fécula de maíz (dietas F), cuyo efecto fue más evidente al d_{15} . Igualmente, se logró inducir al desove en ambos sexos, en machos desde el día 15 (mayormente con las dietas M y F1) y al día 30 (casi todas las dietas); en las hembras el desove solo ocurrió al d_{30} con la dieta L2. Al final del bioensayo, el proceso de acondicionamiento gonadal se reflejó en un mayor porcentaje de reproductores maduros, valores significativamente más altos de ITG en machos y hembras que recibieron la dieta L1, y una talla significativamente mayor de ovocitos en etapa de madurez (post-vitelogénica) en las pocas hembras que cambiaron de sexo con la dieta L2. Con esta última dieta, los valores de DT de los ovocitos registrados al final del acondicionamiento gonádico (~43 μ m) son consistentes con los reportados para hembras silvestres de *P. sterna*, los cuales oscilan entre 36,5 μ m (Vite-García y Saucedo 2008) y 42,7 μ m (Gómez-Robles et al. 2013). Se recomienda evaluar el efecto de la dieta microalgal enriquecida con diferentes niveles de carbohidratos y lípidos en el perfil de ácidos grasos de la especie, dado que estos son un indicador confiable de calidad de ovocitos en desarrollo (Navarro et al. 2000; Nevejan et al. 2003; Ehteshami et al. 2011; Hawkyns et al. 2014).

La mayoría de los indicadores histológicos y bioquímicos asociados a las dietas F1 y F2 mostraron marcadas diferencias temporales con respecto a los registrados con las dietas L1 y L2. Por ejemplo, se observó una drástica disminución en la concentración de carbohidratos totales del músculo aductor en las ostras alimentadas con las dietas F1 y F2, así como una disminución más gradual en la concentración de carbohidratos totales de la gónada. Ambos resultados sugieren una de dos posibles estrategias de manejo de los glúcidos durante el proceso de acondicionamiento: (1) Que su aprovechamiento no fue tan efectivo con las dietas F1 y F2, y los reproductores metabolizaron de forma preferente las reservas glucídicas previamente almacenadas en el músculo; y (2) Que las reservas glucídicas del músculo aductor fueran aportadas por las dietas microalgales desde el periodo de aclimatación, y más adelante fueron un complemento con las dietas F1, F2, L1 y L2. Lo anterior podría explicar por qué las dietas F1 y F2 no favorecieron una óptima maduración de los gametos masculinos y femeninos al final el bioensayo (d_{30}), en comparación con las dietas L1 y L2. Sin embargo, esta explicación podría no ser suficiente si se considera que la fécula de maíz contiene más de un 70% de carbohidratos en forma de glucógeno, el cual es fácil de metabolizar para ser integrado a las rutas que promueven el crecimiento, reproducción y mantenimiento celular de los organismos (Racotta et al. 2003; Palacios et al. 2007; Mazón-Suástegui et al. 2008, 2009). Además, las reservas de glucógeno pueden ser convertidas en sustratos lípidos útiles para la gametogénesis vía un proceso de lipogénesis que ha sido reportado en diversas especies de moluscos bivalvos (Mazón-Suástegui et al. 2008, 2009, 2017, 2019; López-Carvallo et al. 2017). Al respecto, Fernández-Reiriz et al. (1998) y Albentosa et al. (2002) reportan que la adición de compuestos glucídicos a la dieta microalgal acelera el crecimiento de tejidos somáticos e incrementa el perfil lipídico de juveniles de la almeja fina *Ruditapes decussatus*. El complemento de la dieta microalgal con cereales enriquecidos con carbohidratos también maximizó el potencial de crecimiento de juveniles de la ostra de placer *Crassostrea corteziensis* (Mazón-Suástegui et al. 2008, 2009, 2019; Maeda-Martínez et al. 2016) e incrementó los niveles de lípidos de la gónada y el éxito reproductivo de los mejillones *Mytilus*

galloprovincialis (Pirini *et al.* 2007) y *Modiolus capax* (López-Carvallo *et al.* 2017). Con base en estos resultados, existe la posibilidad de que *P. sterna* sea una especie poco eficiente para transformar bien los compuestos glucídicos de la fécula de maíz en reservas lipídicas útiles para el proceso reproductivo; esta posibilidad aún debe ser comprobada.

En la gónada, el contenido de lípidos se incrementó en todas las ostras a los 15 y 30 días (64 a 68 mg/g), alcanzando picos significativos de hasta 75 mg/g en aquellas alimentadas con las dietas L1 y L2 al día 30. En moluscos, y de forma particular en las hembras, un alto contenido de lípidos en la gónada se asocia con un uso activo de la energía durante las etapas finales de la maduración de los ovocitos, previa al desove. Este patrón se reporta en especies como la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* (Racotta *et al.* 2003; Palacios *et al.* 2007), la ostra plana *Ostrea edulis* (González-Araya *et al.* 2012) y la madreperla de labios negros *Pinctada margaritifera* (Le Moullac *et al.* 2013), todas acondicionadas con diferentes dietas microalgales. Altos niveles de lípidos en ovocitos maduros se reportan también en el ostión del norte *Argopecten purpuratus* madurado con dietas microalgales complementadas con emulsiones lipídicas (Nevejan *et al.* 2003) y *P. margaritifera* madurada con microalgas suplementadas con microesferas ricas en lípidos y ácidos grasos (Ehteshami *et al.* 2011).

Las diferencias tan marcadas que se observaron en la concentración de lípidos de las ostras alimentadas con las dietas F1/F2 y L1/L2 podrían deberse al hecho de que las células microalgales contienen fosfolípidos y triglicéridos como lípidos mayoritarios (Marshall *et al.* 2010), en tanto que los lípidos más abundantes en el germen de trigo y la fécula de maíz son los triglicéridos y escasos fosfolípidos (Fernández-Reiriz *et al.* 1998, 1999; Matias *et al.* 2016). Estos últimos autores encontraron que los mayores índices de desempeño de juveniles de la almeja fina *R. decussatus* ocurrieron con dietas que presentaban una mayor relación fosfolípidos/triglicéridos. Por el contrario, en este estudio, el contenido de lípidos de la glándula digestiva disminuyó de forma significativa de 122 mg/g (d_0) a unos 40-50 mg/g (d_{15} y d_{30}) con casi todas las dietas. Este patrón confirma la importancia de la glándula digestiva para el almacenamiento temporal y movilización de reservas lipídicas hacia la gónada durante el desarrollo y maduración de gametos en *P. sterna* (Vite-García y Saucedo 2008; Cáceres-Puig *et al.* 2009; Gómez-Robles *et al.* 2013, 2023). A su vez, estos resultados indican que es necesario profundizar en el estudio de las estrategias de manejo de reservas energéticas asociadas a la maduración de la especie, tanto en el campo y laboratorio, así como a diferentes tallas. Esto debido a que las diferencias en la composición bioquímica de la gónada y tejidos somáticos podrían ser el resultado de las diferencias cualitativas y cuantitativas de la dieta ofertada a los reproductores en cautiverio (este estudio), en comparación con la dieta disponible en el medio ambiente (Vite-García y Saucedo 2008; Gómez-Robles *et al.* 2013); estas diferencias también podrían estar asociadas a los cambios secuenciales macho-hembra-macho que experimenta la especie como parte de su condición de protandria o hermafroditismo.

En conclusión, las dietas enriquecidas con microencapsulados lipídicos, y en menor medida con carbohidratos, parecen ser una buena alternativa para la maduración de gametos de reproductores de *P. sterna*. No obstante, su uso revela diferencias importantes en el metabolismo de las reservas energéticas, las cuales podrían reflejar la condición de los individuos al momento de la primera madurez sexual, así como a sucesivos cambios de sexo ligados al hermafroditismo secuencial (protandria). Al respecto, la dieta L2 parece la más adecuada para la maduración de los reproductores, aunque existe la posibilidad de que las primeras hembras que se observaron con ovocitos “maduros” posterior al cambio de sexo no hayan alcanzado la capacidad fisiológica suficiente para asegurar el éxito reproductivo de la especie. Dado que el aporte energético y los beneficios de las dietas F son indudables, se recomienda evaluar incrementos en la ración diaria (% de la BST) de lípidos y glucídicos en ambas dietas (e.g. 4%, 6%, 8%). Evaluar estos incrementos en cohortes sucesivas de organismos de ambos sexos podría proporcionar un mayor entendimiento de la dinámica fisiológica asociada a la maduración inicial y subsecuente cambio de sexo de *P. sterna*. Esta estrategia podría también ayudar a optimizar un protocolo eficiente de maduración de reproductores con dietas tipo L y F en ambiente controlado de laboratorio, dentro y fuera de su temporada reproductiva natural, con potencial aplicación a la acuicultura y producción de perlas.

Agradecimientos

El presente estudio fue financiado con recursos del proyecto SEP-CONACYT 81249 a cargo de P.E.S. Los autores expresan su agradecimiento al CONACYT por la beca de estudios otorgada a C.G.H.L. (Reg. #319045). Se agradece también a Horacio Bervera, Juan José Ramírez, María Eulalia Meza-Chávez y Roberto Hernández-

Herrera (CIBNOR) por el apoyo en la recolecta de organismos y su procesamiento histológico, histoquímico y bioquímico. Patricia Hinojosa (CIBNOR) ayudó en la preparación de los complementos alimenticios. La participación de César Lodeiros se gestionó a través de resultados generados con el proyecto PYTBEC408-2018-FCV0012 “Factibilidad del cultivo de la ostra del pacífico *Crassostrea gigas* y la ostra perlera alada *Pteria sterna* en el estuario del río Chone, provincia de Manabí, Ecuador”, financiado por la Universidad Técnica de Manabí.

REFERENCIAS

- Albentosa M., Fernández-Reiriz M.J., Pérez-Camacho A., Labarta U. 2002. Wheatgerm flour in diets for manila clam *Ruditapes philippinarum*, spat. *Aquaculture* 212: 335–345. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00121-7](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00121-7).
- Bligh E.G., Dyer W.J. 1959. A rapid method for total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37: 911–917.
- Caers M., Coutteau P., Sorgeloos P. 2000. Incorporation of different fatty acids, supplied as emulsions or liposomes, in the polar and neutral lipids of *Crassostrea gigas* spat. *Aquaculture* 186: 157–171. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00364-6](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00364-6).
- Caers M., Coutteau P., Sorgeloos P., Gajardo G. 2003. Impact of algal diets and emulsions on the fatty acid composition and content of selected tissues of adult broodstock of the Chilean scallop *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819). *Aquaculture* 217: 437–452. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00144-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00144-8).
- Cáceres-Puig J.I., Cáceres-Martínez C., Saucedo P.E. 2009. Annual reproductive effort of Pacific winged pearl oyster *Pteria sterna* and its relation with the timing for planning pearl seeding operations. *J. Shellfish Res.* 29: 288–295. <https://doi.org/10.2983/035.028.0308>.
- Coan E.V., Valentich-Scott, P. 2012. Bivalve seashells of tropical west America. Marine bivalve mollusks from Baja California to Northern Peru. Santa Barbara Museum of Natural History, Santa Barbara, CA, pp. 1257. ISBN: 978-0-936494-43-2.
- Ehteshami F., Christianus A., Rameshi H., Azni-Harmin S., Roos-Saad C. 2011. The effects of dietary supplements of polyunsaturated fatty acid on pearl oyster, *Pinctada margaritifera* L., gonad composition and reproductive output. *Aquac. Res.* 42: 613–622. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2010.02658.x>.
- Fernández-Reiriz M.J., Labarta U., Albentosa M., Pérez-Camacho A. 1998. Effect of microalgal diets and commercial wheatgerm flours on the lipid profile of *Ruditapes decussatus* spat. *Comp. Biochem. Physiol.* 119A: 369–377. [10.1016/S1095-6433\(97\)00429-7](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(97)00429-7).
- Fernández-Reiriz M.J., Labarta U., Albentosa M., Pérez-Camacho A. 1999. Lipid profile and growth of the clam spat, *Ruditapes decussatus* (L), fed with microalgal diets and cornstarch. *Comp. Biochem. Physiol.* 124B: 309–318. [10.1016/S0305-0491\(99\)00129-7](https://doi.org/10.1016/S0305-0491(99)00129-7).
- Freites L., Jara F., Gregori M., Márquez A., Saucedo P.E., Lodeiros C. 2020. Performance of the winged pearl oyster *Pteria sterna* (Gould, 1851), implanted for half-pearl (mabé) production in two size groups. *Aquaculture* 524: 735267. <http://doi.org/10.4194/AQUAST926>.
- Gómez-Robles E., Mazón-Suástegui J.M., Acosta-Salmón H., Hawkins M., Saucedo P.E. 2013. Internal nutrient management associated to gonad quality and successful reproduction of the winged pearl oyster *Pteria sterna*. *Aquaculture* 412–413: 45–51. [10.1016/J.AQUACULTURE.2013.07.010](https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2013.07.010).
- Gómez-Robles M.E., Acosta-Salmón H., Mazón-Suástegui J.M., Saucedo P.E. 2023. Variaciones estacionales en el desempeño reproductivo y larvario de la concha nácar *Pteria sterna* asociadas a condiciones ambientales anómalas. *Cienc. Mar. (en prensa)*.

- González-Araya G., Lebrun L., Quéré C., Robert R. 2012. The selection of an ideal diet for *Ostrea edulis* (L.) broodstock conditioning (part B). Aquaculture 362–363: 55–66. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.06.029>.
- Hawkyns M., Saucedo P.E., Carreón-Palau L., Gómez-Robles M.E., Acosta-Salmón H. 2014. Docosapolyenoic fatty acids are essential to improve egg quality in *Pteria sterna* (Bivalvia: Pteriidae). Aquaculture 432: 74–79.
- Helm M.M., Bourne N., Lovatelli A. 2006. *Cultivo de bivalvos en criadero. Un manual práctico*. FAO Documento Técnico de Pesca 471, 184 pp. ISBN 92-5-305224-4.
- Hoyos-Chairez F., Aragón-Noriega E., Chávez-Villalba J. 2020. Modelling early growth of the pearl oyster *Pteria sterna* under pilot-commercial production. Aquac. Res. 51: 5106–5117. <https://doi.org/10.1111/are.14849>.
- Jara F., Freitas L., Gregori M., Márquez A., Rodríguez-Pesantes D., Lodeiros C. 2021. Effect of different nuclei sizes and culture time on the quality of half pearls (mabé) produced by the winged pearl oyster *Pteria sterna* (Gould, 1851) in Ecuador. Aquaculture 546: 737278. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737278>.
- Kiefert L., McLaurin D., Arizmendi E., Hänni H.A., Elen S. 2004. Cultured pearls from the Gulf of California, Mexico. Gems & Gemology 40: 26–38.
- Kim Y., Ashton-Alcox K.A., Powell E.N. 2006. Histological Techniques for Marine Bivalve Molluscs: Update. Silver Spring, MD. NOAA Technical Memorandum NOS NCCOS 27.
- Knauer J., Southgate P.C. 1999. A review of the nutritional requirements of bivalves and the development of alternative and artificial diets for bivalve aquaculture. Rev. Fish. Sc. 7: 241–280. <https://doi.org/10.1080/10641269908951362>.
- Le Moullac G., Soyez C., Sham-Koua M., Levy P., Moriceau J., Vonau V., Maihota M., Cochard J.C. 2013. Feeding the pearl oyster *Pinctada margaritifera* during reproductive conditioning. Aquac. Res. 44: 404–411. [10.1111/j.1365-2109.2011.03045.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.03045.x).
- López-Carvallo J.A., Saucedo P.E., Rodríguez-Jaramillo C., García-Corona J.L., Mazón-Suástegui J.M. 2017. Carbohydrate-rich diets meet energy demands of gametogenesis in hatchery-conditioned mussels (*Modiolus capax*) at increasing temperatures. J. Shellfish Res. 36: 649–657. [10.2983/035.036.0314](https://doi.org/10.2983/035.036.0314).
- Maeda-Martínez A.N., Saucedo P.E., Mazón-Suástegui J.M., Acosta-Salmón H., Romero-Meléndez Z. 2016. Scope for growth of juvenile Cortez oyster, *Crassostrea corteziensis* fed isocaloric diets prepared with microalgae and cereal flours. Latin Am. J. Aquat. Res. 44: 845–849. <http://dx.doi.org/10.3856/vol44-issue4-fulltext-20>.
- Marshall R., McKinley S., Pearce C.M. 2010. Effects of nutrition on larval growth and survival in bivalves. Rev. Aquac. 2: 33–55. <https://doi.org/10.1111/j.1753-5131.2010.01022.x>.
- Matias D., Joaquim S., Matias A.M., Leitão, A. 2016. Reproductive effort of the European clam *Ruditapes decussatus* (Linnaeus, 1758): influence of different diets and temperatures. Inve. Reprod. Dev. 60: 49–58.
- Mazón-Suástegui J.M. 1988. Acondicionamiento y desove de cuatro especies de moluscos bivalvos alimentados con dietas artificiales. Rev. Latinoam. Acuic. 38: 4–12.
- Mazón-Suástegui J.M., Ruíz-Ruiz K.M., Parres A., Saucedo P.E. 2008. Combined effects of diet and stocking density on growth and biochemical composition of spat of the Cortez oyster *Crassostrea corteziensis* during hatchery culturing. Aquaculture 284: 98–105. [10.1016/j.aquaculture.2008.07.022](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.07.022).

- Mazón-Suástegui J.M., Parres-Haro A., Ruíz-Ruiz K.M., Rodríguez-Jaramillo M.C., Saucedo P.E. 2009. Influence of hatchery diets on early grow-out of the Cortez oyster *Crassostrea corteziensis* in Sinaloa, Mexico. *Aquac. Res.* 40: 1908–1914. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02347.x>
- Mazón-Suástegui J.M., Lodeiros C., Avilés-Quevedo A., Rodríguez-Jaramillo C., Ortiz-Cornejo N., Abasolo-Pacheco F. 2017. Cornstarch as a dietary supplement in conditioning broodstock and spat nursery of the Pacific calico scallop, *Argopecten ventricosus*. *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 45: 915–921. <http://dx.doi.org/10.3856/vol45-issue5-fulltext-6>.
- Mazón-Suástegui J.M., Leyva-Miranda G.A., Arrieché-Galíndez D., Lodeiros C., López-Carvallo J.A. 2019. Influence of hatchery rich-carbohydrates diet on the oyster *Crassostrea corteziensis* (Hertlein, 1951). *Aquac. Res.* 50:3078–3081. <https://doi.org/10.1111/are.14263>.
- Meza-Buendía A.K. 2016. Respuesta fisiológica de *Pteria sterna* (Gould, 1851) en relación a la concentración de alimento y temperatura. Tesis de Maestría, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas del I.P.N., La Paz, B.C.S., México.
- Navarro J.M., Leiva G.E., Martínez G., Aguilera C. 2000. Interactive effects of diet and temperature on the scope for growth of the scallop *Argopecten purpuratus* during reproductive conditioning. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 247: 67–83. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(00\)00140-4](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(00)00140-4).
- Nevejan N., Courtens V., Hauva M., Gajardo G., Sorgeloos P. 2003. Effect of lipid emulsions on production and fatty acid composition of eggs of the scallop *Argopecten purpuratus*. *Mar. Biol.* 143: 327–338. [10.1007/s00227-003-1076-x](https://doi.org/10.1007/s00227-003-1076-x).
- Palacios E., Racotta I.S., Arjona-Leyva O., Marty Y., Le Coz R., Moal J., Samain J.F. 2007. Lipid composition of the pacific lion-paw scallop *Nodipecten subnodosus*, in relation to gametogenesis. 2. Lipid classes and sterols. *Aquaculture* 266: 266–273. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.02.030>.
- Pérez-Camacho A., Albentosa M., Fernández-Reiriz M.J., Labarta U. 1998. Effect of microalgal and inert cornmeal and cornstarch/ diets on growth performance and biochemical composition of *Ruditapes decussatus* seed. *Aquaculture* 160: 89–102. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00232-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00232-9).
- Pirini M., Manuzzi M.P., Pagliarani A., Trombetti F., Borgatti A.R. 2007. Changes in fatty acid composition of *Mytilus galloprovincialis* (Lmk) fed on microalgal and wheat germ diets. *Comp. Biochem. Physiol.* 147B: 616–626. [10.1016/j.cbpb.2007.04.003](https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2007.04.003).
- Racotta I.S., Ramírez J.L., Ibarra A.M., Rodríguez-Jaramillo M.C., Carreño D., Palacios E. 2003. Growth and gametogenesis in the lion-paw scallop *Nodipecten (Lyropecten) subnodosus*. *Aquaculture* 217: 335–349. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00366-6](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00366-6).
- Rodríguez-Jaramillo M.C., Hurtado M.A., Romero-Vivas E., Ramírez J.L., Manzano M., Palacios E. 2008. Gonadal development and histochemistry of the tropical oyster, *Crassostrea corteziensis* (Hertlein, 1951) during an annual reproductive cycle. *J. Shellfish Res.* 27: 1129–1141. <https://doi.org/10.2983/0730-8000-27.5.1129>.
- Ruiz-Rubio H., Acosta-Salmon H., Olivera A., Southgate P.C., Rangel-Dávalos C. 2006. The influence of culture method and culture period on quality of half-pearls (mabé) from the winged pearl oyster *Pteria sterna*, Gould, 1851. *Aquaculture* 254: 269–274. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.09.030>.
- Saucedo P.E., Monteforte M. 1997. Breeding cycle of pearl oyster *Pinctada mazatlanica* and *Pteria sterna* (Bivalvia: Pteriidae) at Bahía de La Paz, Baja California Sur, Mexico. *J. Shellfish Res.* 16: 103–110.

- Saucedo P.E. 2017. Advances in hatchery production of the winged pearl oyster *Pteria sterna*. World Aquac. Mag. Marzo: 15–18.
- Saucedo P.E., Southgate P.C. 2008. Reproduction. En: Southgate P.C., Lucas J.S. (ed). *The Pearl Oyster: Biology and Culture*. Elsevier Science, Amsterdam, Holanda, pp. 131–186.
- Saucedo P.E., McLaurin D., Lodeiros-Seijo C., Freitas L., Cáceres-Puig J.I., Southgate P.C., Albuquerque M.C.D., Acosta-Salmon H. 2022. Progress towards reestablishing Latin America as a major pearl producing region: a review. Rev. Aquac. 15: 242–260. <https://doi.org/10.1111/raq.12714>.
- Serna-Gallo I., Ruíz-Velazco J.M.J., Acosta-Salmon H., Peña-Messina E., Saucedo P.E. 2014. Growth and reproduction patterns of the winged pearl oyster *Pteria sterna*, cultivated in tropical Mexico: Implications for pearl farming. Cienc. Mar. 40: 75–88. <https://doi.org/10.7773/cm.v40i2.2393>.
- Soudant P., Val Sanles M., Quere C., Le Coz J.R., Marty Y., Moal J., Samain J.F., Sorgeloos P. 2000. The use of lipid emulsions for sterol supplementation of spat of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. Aquaculture 184: 315–326. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00323-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00323-3).
- Smith P.K., Krohn R.I., Hermanson G.T., Mallia A.K., Gartner F.H., Provenzano M.D., Fujimoto K, Goeke N.M., Olson B.J., Klenk D.C. 1985. Measurement of protein using bicinchoninic acid. Anal. Biochem. 150: 76–85.
- Sokal R.R., Rohlf F.J. 1981. Biometry. The principles and practices of statistics, 2ª ed. W.H. Freeman & Co., San Francisco, CA.
- Van Handel E. 1965. Estimation of glycogen in small amounts of tissue. Anal. Biochem. 11: 256–265.
- Vite-García M.N., Saucedo P.E. 2008. Energy storage and allocation during reproduction of Pacific winged pearl oyster *Pteria sterna* (Gould, 1851) at Bahía de La Paz, Baja California Sur, Mexico. J. Shellfish Res. 27: 375–383. 10.2983/0730-8000(2008)27[375:ESAADR]2.0.CO;2

